



TITLE:

Functional analysis of signaling components
regulating pathogenicity and asexual/sexual
development in *Bipolaris maydis*(
Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Kitade, Yuki

CITATION:

Kitade, Yuki. Functional analysis of signaling components regulating pathogenicity and asexual/sexual development in *Bipolaris maydis*. 京都大学, 2019, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21840>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	北出 雄生
論文題目	Functional analysis of signaling components regulating pathogenicity and asexual/sexual development in <i>Bipolaris maydis</i> （トウモロコシごま葉枯病菌の病原性、有性的・無性的形態形成を制御する情報伝達因子の機能解析）		
（論文内容の要旨）			
<p>出芽酵母のFus3/Kss1 MAPKのホモログは、糸状菌類において広く保存され、様々な形態形成に関わることが知られている。本論文で取り上げたトウモロコシごま葉枯病菌（<i>Bipolaris maydis</i>）において、ホモログChk1が病原性や有性的・無性的形態形成に必須であることがすでに明らかになっているが、その上流情報伝達系に関する詳細は未解明である。本論文は、本菌の病原性や有性的・無性的形態形成に関わるChk1経路の解明を目的としたものであり、内容は以下の通りである。</p> <p>第1章では、本菌の病原性ならびに有性的・無性的形態形成を制御する情報伝達因子に関する先行研究の現状を論じるとともに、本研究の意義及び目的を示した。</p> <p>第2章では、本菌における3種類のMAPKKのうち、Ste7ホモログを分子系統解析により同定し、機能解析を行った。Ste7遺伝子破壊株のコロニーはメラニンを欠き、分生子形成数は劇的に低下していた。また、感染特異的器官である付着器の形成は認められず、病原性を喪失していた。有性生殖においては、雌性器官である偽子嚢殻の形成能を喪失していたものの、雄性機能は正常であった。これらの形質は、Chk1ならびにSte11（MAPKKK）をコードする各遺伝子破壊株と一致していた。以上より、Ste7がChk1経路の上流MAPKKであり、Ste11－Ste7－Chk1カスケードが病原性ならびに有性的・無性的形態形成を制御することを明らかとした。</p> <p>第3章では、出芽酵母においてFus3/Kss1経路の活性化に関わる2種類のPAK様キナーゼ、Ste20ならびにCla4のホモログを分子系統解析により同定し、機能解析を行った。Ste20遺伝子破壊株では、有性生殖における形態異常以外は、野生株との差異は認められなかった。一方、Cla4遺伝子破壊株は、菌糸生育の劇的な低下を示し、分生子形成過程の顕著な異常を示した。病原性については、付着器形成数の劇的な減少が認められ、病原性の劇的な低下を示した。有性生殖に関しては、雌性不稔のみならず、雄性機能においても顕著な低下を示した。Cla4遺伝子破壊株の菌糸生育に関して詳細に調査したところ、栄養菌糸の先端において先端分裂が高頻度で認められ、また、極性点の消失ならびに分裂が一定の割合で観察され、Cla4遺伝子破壊株が菌糸先端の極性維持において異常を示すことが明らかとなった。以上より、Ste20よりむしろCla4が、病原性、有性的・無性的形態形成ならびに極性成長において重要な役割を持つことを明らかにした。</p> <p>第4章では、出芽酵母においてSte20を活性化するRho低分子量Gタンパク質Cdc42のホモログ、Cdc42とRac1を分子系統解析により同定し、機能解析を行った。Cdc42ならびにRac1遺伝子破壊株は菌糸生育の低下を示し、分生子形成過程の異常を示した。Rac1遺伝子破壊株では付着器の形成は認められず、病原性を喪失していた。一方で、Cdc42遺伝子破壊株は付着器からの宿主侵入能の低下を示し、病原性の低下を示した。有性生殖においては、Cdc42遺伝子破壊株は雌性不稔を示したが、雄性機能は正常であった。その一方で、Rac1遺伝子破壊株は雌性不稔のみならず、雄性機能の完全な喪失も示していた。以上より、Cdc42とRac1の両者が、病原性ならびに有性的・無性的</p>			

形態形成において重要な役割を持つことを明らかにした。

第5章では、本研究の成果を総括し、これら情報伝達因子の病原性、有性的・無性的形態形成における機能、ならびにChk1経路との関連性について議論した。今回解析したChk1推定上流因子のうち、Ste20、Cla4、Cdc42、Rac1をコードする各遺伝子の破壊株はメラニン合成能を保持しており、これらの因子がChk1経路の活性化に必須ではないことが明らかとなった。次に形態形成ごとに切り分けて、シグナル伝達モデルの推測を行った。その結果、Rac1ならびにCla4の遺伝子破壊株が菌糸生育の劇的な低下、分生子形成過程における特有の異常、有性生殖時における雄性機能の低下もしくは喪失といったChk1遺伝子破壊株にみられない形質を共有していることから、Rac1ならびにCla4の下流において菌糸生育、分生子形成過程のみならず、雄性機能を制御する、Chk1経路とは独立の新規経路が存在することが示唆された。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

糸状菌類においてMAPKシグナル伝達系を構成する因子は進化的に保存されていることがあきらかになっている。しかし、各因子あるいはシグナル伝達系がどのような細胞機能あるいは生活史の各イベントにおける役割を担っているのかには、菌種による違いが認められる。本論文では、*B. maydis*のMAPKシグナル伝達系3種の内、本菌の病原性や有性的・無性的形態形成に必須であることが知られているChk1(出芽酵母のFus3/Kss1ホモログ)経路の上流に関わる可能性のある因子を同定し、遺伝子破壊株の形質評価により、各因子の病原性、有性的・無性的形態形成における機能推定、ならびにChk1経路との関連性を調査した。本論文の評価すべき点は以下の通りである。

1. 分子系統解析により Ste7 ホモログを同定し、機能解析を行った。Ste7 遺伝子破壊株の形質を評価し、Ste7 が Chk1 経路の上流 MAPKK であり、Ste11-Ste7-Chk1 カスケードが病原性ならびに有性的・無性的形態形成を制御することを明らかにした。
2. 出芽酵母 Fus3/Kss1 経路の活性化に関わる2種類のPAK様キナーゼ、Ste20ならびに Cla4 のホモログを分子系統解析により同定し、機能解析を行った。その結果、主に Cla4 が Chk1 経路の上流因子として機能し、病原性、有性的・無性的形態形成に関与する事を見出した。さらに、Cla4 が極性成長において重要な役割を持つことを明らかにした。
3. 出芽酵母で PAK 様キナーゼの活性化因子と考えられている Rho ファミリー低分子量 G タンパク質の内、Cdc42 と Rac1 のホモログを分子系統解析により同定し、機能解析を行った。その結果、Cdc42 は宿主侵入行動に関与し、Rac1 は侵入器官形成、有性的・無性的形態形成に関与することを明らかにした。
4. Rac1 ならびに Cla4 の下流において菌糸生育、分生子形成過程のみならず、Chk1 経路とは独立の雄性機能を制御する経路が存在することを見出した。

以上のように、本論文は、*B. maydis*の病原性や有性的・無性的形態形成に関わるChk1経路を明らかにし、さらに従来ほとんど解明されていない雄性機能制御に関わる経路の存在を示したものであり、微生物環境制御学、真菌学、ならびに植物保護学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成31年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)